动 物 学 研 究 2011，Aug. 32(4): 353−362 CN 53-1040/Q ISSN 0254-5853
Zoological Research DOI：10.3724/SP.J.1141.2011.04353

郑氏比蜢线粒体基因组全序列的测定与分析

杨 辉, 黄 原*

(陕西师范大学 生命科学学院, 陕西 西安 710062)

摘要：采用长距 PCR 扩增及保守引物步移法测定并注释了郑氏比蜢(*Pielomastax zhengi*)的线粒体基因组全序列。郑氏比蜢的线粒体基因组全长 15602 bp, A+T 含量为 71.8%, 37 个基因位置与飞蝗的一致, 基因间隔序列共计 10 处 47 bp, 间隔长度从 1～20 bp 不等; 有 14 对基因间存在 52 bp 重叠, 重叠碱基数在 1～8 bp 之间。蛋白质基因的起始密码子均为昆虫典型的起始密码子 ATN。ND5 基因使用了不完全终止密码子 T, 其余基因均为典型的 TAA 或 TAG。除 tRNASer(AGN)的 DHU 臂缺失外, 其余 21 个 tRNA 基因的二级结构均属典型的三叶草结构, 但在郑氏比蜢中有 5 个 tRNA($tRNA^{Cys}$、$tRNA^{Lys}$、 $tRNA^{Phe}$、 $tRNA^{Pro}$ $tRNA^{Arg}$)基因变异较大, 无法采用常规算法预测出来, 表现在这 5 个 tRNA 二级结构的 TψC 臂仅有 3～4 对配对碱基, $tRNA^{Lys}$ 和 $tRNA^{Arg}$ 的反密码臂仅有 4 对配对碱基。预测的 lrRNA 二级结构总共有 6 个结构域(结构域III缺失), 44 个茎环结构。预测的 srRNA 的二级结构包含 3 个结构域, 30 个茎环结构。比较郑氏比蜢、西藏飞蝗(*Locusta migratoria tibetensis*)和疑钩额螽(*Ruspolia dubia*)rRNA 二级结构后，发现郑氏比蜢与西藏飞蝗的更相似。A+T 丰富区中存在一个被认为与复制及转录起始有关的 Ploy(T)结构。

关键词：蜢总科; 郑氏比蜢; 线粒体基因组; RNA 二级结构
中图分类号：Q969.26; Q754 **文献标志码**：A **文章编号**：0254-5853-(2011)04-0353-10

Analysis of the complete mitochondrial genome sequence of *Pielomastax zhengi*

YANG Hui, HUANG Yuan*

(*School of Life Sciences*, *Shaanxi Normal University*, *Xi'an* 710062, *China*)

Abstract: The complete mitochondrial genome sequence of *Pielomastax zhengi* was determined by using long PCR and conserved primer walking approaches. The results showed that the entire mitochondrial genome of *Pielomastax zhengi* is 15602 bp long with A+T content of 71.8%. All 37 genes are conserved in the positions observed in those of *Locusta migratoria*. All the genes are closely assembled by leaving 10 intergenic spacers in between. Those intergenic spacers are 47 bp in total (excluding the A+T rich region), with individual size ranges from 1 bp to 20 bp. In addition, there are a total of 52 bp overlapping sequences among 14 genes, ranging from 1−8 bp. All protein-coding genes start with a typical initiation codon in insects, ATN. Twelve protein-coding genes use the usual TAA and TAG termination codons, whereas, the ND5 genes have an incomplete termination codon (T). Except the tRNASer (AGN), whose DHU arm is absent; all the other 21 tRNA genes have typical clover-leaf secondary structures. But in *Pielomastax zhengi*, the secondary structures of five tRNA ($tRNA^{Cys}$, $tRNA^{Lys}$, $tRNA^{Phe}$, $tRNA^{Pro}$, $tRNA^{Arg}$) genes can not be predicted by the conventional methods as they have only 3−4, rather than 5 base pairs in the TψC arm, while, the $tRNA^{Lys}$ and $tRNA^{Arg}$ have only 4 base pairs in the anticode arm. The predicted secondary structures of lrRNA and srRNA have 6 domains with 44 helices and 3 domains with 30 helices, respectively. The results of the rRNA secondary structure comparison showed that *Pielomastax zhengi* is more closely related with *Locusta migratoria tibetensis* than *Ruspolia dubia*. Like most insects, the mitochondrial genome of *Pielomastax zhengi* has a non-coding A+T rich region containing a polythymidine stretch, which may be involved in the replication and/or translation initiation of other genes.

Key words: Eumastacoidea; *Pielomastax zhengi*; Mitochondrial genome; RNA secondary structure

收稿日期：2011-01-06；接受日期：2011-03-28
基金项目：自然基金资助项目(30670279；30970346)
*通讯作者(Corresponding author)，E-mail: yuanh@snnu.edu.cn
第一作者简介：杨辉，硕士研究生，研究方向：基因组学

后生动物线粒体基因组通常是编码 37 个基因(13 个蛋白质基因、22 个 tRNA 基因及 2 个 rRNA 基因)和 1 个控制区(也称 A+T 丰富区)的细胞器基因组(Wolstenholme, 1992; Ding et al, 2007)。线粒体 DNA 具有多拷贝数、母系遗传、突变率高、极少发生重组等特性, 已被广泛地运用于分子进化、系统地理学和系统发育关系等方面的研究(William et al, 2001)。根据 NCBI(www.ncbi.nlm.nih.gov/genomes/ORGANELLES/mztax_short.html) 的统计, 截至 2010 年 11 月, 已测出全线粒体基因组的昆虫纲种类有 223 种, 其中直翅目昆虫 34 种。由于测序的类群相对较少, 所选物种的特殊进化模式及系统树中可能的长枝吸引等问题, 利用线粒体基因组数据推断直翅目系统发育和进化地位还存在一定的困难(Gao et al, 2009)。另外, 已测的 34 种直翅目昆虫大部分是螽斯总科和蝗总科的, 还缺乏蜢总科的代表种类, 因而增加这些类群中有关线粒体基因组全序列数据将有利于建立比较稳健的系统发育关系。

郑氏比蜢(*Pielomastax zhengi*)属于直翅目蜢总科(Eumastacoidea)枕蜢科(Episactidae)。蜢总科是一类较罕见而又原始的小型昆虫, 其中一些种类还被认为是第三纪的孑遗种类。它们的大多数种类生活在热带和亚热带的灌木丛或林区内(Huang et al, 2009)。本文测定并注释了郑氏比蜢线粒体基因组全序列, 并对其编码的 22 个 tRNA 和大小亚基 rRNA 的二级结构做了预测和分析, 以期为直翅目昆虫线粒体谱系基因组学提供新的数据资料。

1 材料和方法

1.1 标本采集及总 DNA 的提取

郑氏比蜢标本于 2009 年 8 月采集于河南内乡县宝天曼自然保护区, 保存于无水乙醇。总 DNA 采用酚-氯仿抽提法: 将后足股节肌肉置于 600 μL 匀浆缓冲液(0.01 mol/L Tris, pH 7.8; 5 mmol/L EDTA, 5% SDS, 50 ng proteinase K/μL)中研磨, 65 ℃水浴消化 3～5 h。用平衡酚(pH 7.6～7.8)提纯 2 次, 再用 CI(氯仿：异戊醇=24：1)提纯一次。最后用 −20 ℃预冷的 100%乙醇沉淀和 70%乙醇洗涤总 DNA, 保存于−20 ℃。

1.2 PCR 扩增及测序

本研究所采取的测序策略是长 PCR 产物步移法测序, 如有测序效果不佳或不能够测通的区域, 再做 sub-PCR 来补齐缺口。首先, 通过四对长距 PCR(L-PCR)引物将线粒体基因组扩增为 4 条相互重叠的片段(片段 A、A_2、B_1 和 B_2), 4 个片段的上下游引物序列见表 1(Liu et al, 2006), 长距 PCR 反应体系的总体积是 15 μL, 包括 10×反应缓冲液 1.5 μL、25 mmol/L $MgCl_2$ 2 μL、2.5mmol/L dNTPs 3 μL, 10 μmol/L 上、下游引物各 2μL、5 U/μL LA-TaqDNA 聚合酶 0.15～0.35 μL、总 DNA 为模板 1 μL。然后, 加 ddH_2O 至终体积 15 μL。PCR 反应循环条件如下: 93 ℃预变性 2 min→(92 ℃10 s, 48 ℃ 30 s, 68 ℃ 8 min)共 15 个循环→(92 ℃ 10 s, 48 ℃30 s, 68 ℃ 8 min +20 s)共 15 个循环→68 ℃ 7 min→4 ℃保存。其次, 用 12 对保守引物以片段 A、A1、B1 和 B2 为模板再扩增 320～3175 bp 的短片段, 具体信息见表 2 (Simon et al, 2006)。短片段扩增体系总体积为 25 μL, 包括 10×反应缓冲液 2.5 μL、25 mmol/L $MgCl_2$ 3 μL、2.5 mmol/L dNTPs 2 μL, 10 μmol/L 上、下游引物各 4 μL、5 U/μL TaqDNA 聚合酶 0.15～0.35 μL 和长片段产物(作为 DNA 模板)1 μL。然后, 加 ddH_2O 至终体积 25 μL。PCR 反应程序为: 94 ℃ 2 min→(94℃×30 s＋38～55 ℃×30 s＋72 ℃×1 min)共 30 个循环→72 ℃×7 min→4 ℃ forever。最后, 通过 12 条 sub-PCR 产物测序将缺口补齐, 使基因组连接成环。

表 1 长 PCR 扩增引物序列

Tab. 1 Primer sequences for long PCR amplication

片段 Fragments	引物名称 Name	引物序列 Primer sequences(5'− 3')
A 片段上游	LP03	CAT TTA TTT TGA TTY TTT GGW CAY CCA GAA GT
A 片段下游	LP04	AAA ATW GCR TAW GCA AAT ARA AAA TAT CAT TC
A2 片段上游	F05	AGA GAG GCG TAT TAC TGT TA
A2 片段下游	LP04	AAA ATW GCR TAW GCA AAT ARA AAA TAT CAT TC
B1 片段上游	LP05	WAC ACC AGT TCA TAT TCA ACC AGA ATG ATA TT
B1 片段下游	R31	GGG GTA TGA ACC CAW TAG C
B2 片段上游	F32	TAA AGG RTT AYY TTG ATA G
B2 片段下游	R29	TAC TGT AAA TAT ATG RTG DGC TC

兼并位点(degenerate sites)：G, A, T=D; A, G=R; A, C=M; A, T=W; C, T=Y; A,T, C=H.

表 2　补充扩增片段的引物对

Tab. 2　The partial pair primers for the mitogenome complement fragment amplification

扩增片段 Fragments	引物 Name	位置 Position	预计扩增长度(bp) Expectant length	扩增片段 Fragments	引物 Name	位置 Position	预计扩增长度 Expectant length
RA1	LP03 R30	2123 4642	～2519	RB139	LR-J13900 SR-N14220	13900 14220	～320
RAC	A6-J4463 C3-N4908	4463 4908	～445	R1216	LR-J13342 SR-N14220	13342 14220	～878
RCN	C3-J4792 N3-N5731	4792 5731	～939	R16S	LR-J12888 LR-N13889	12888 13889	～1001
RCT	C3-J5470 TF-N6384	5470 6384	～919	RB02	F10 R12	11961 12823	～862
RB84	N4L-J9648 LP04	9648 11240	～1592	RB03	F11 R15	12733 13288	～465
RB812	N4L-J9648 R12	9648 12823	～3175	RB71	SR-J14197 R31	14197 150	～1571

1.3　序列拼接、注释和分析

使用 Staden Package 1.7 (Bonfield et al, 1995)进行序列拼接和注释，通过与威廉剑角蝗 *Acrida_ willemsei* (NC_011303)线粒体 DNA 序列进行比对确定蛋白质基因、tRNA 基因和 rRNA 基因的位置，使用 MEGA 4.0 统计线粒体基因组碱基组成、蛋白质基因密码子使用频率等。使用 tRNAScan-SE ver.1.21 进行 tRNA 二级结构预测。参考已发表的李氏大足蝗 srRNA 二级结构和 lrRNA 二级结构，对郑氏比蜢线粒体基因组 srRNA 和 lrRNA 的二级结构进行预测(Gao et al, 2009)。

2　结　果

2.1　线粒体基因组组成与基因排列

郑氏比蜢线粒体基因组序列已提交到GenBank，登录号为 JF411955。本研究共测得 41 条可用序列，拼接后的序列总长度为 1 5618 bp，序列覆盖度 1.98 倍，除去两端重叠序列得到郑氏比蜢线粒体基因组的总长度为 1 5602 bp。它由 13 个蛋白质编码基因(protein-coding genes, PCGs)、22 个 tRNA 基因、2 个 rRNA 基因(lrRNA 和 srRNA)组成，基因排列顺序(图 1)与蝗总科昆虫的排列顺序相同，也存在 $tRNA^{Asp}$(D)和 $tRNA^{Lys}$(K)的倒置现象(Huang et al, 2010)。基因排列非常紧密，存在 14 处共 52 bp 的基因重叠，重叠区长度 1～8 bp 不等；基因间隔序列总长度为 47 bp，共计 10 处，大小 1～20 bp 之间，基因间隔最大的在 $tRNA^{Lys}$ 与 ATP8 之间和 ND5 与 $tRNA^{His}$ 之间，分别是 20 bp 和 10 bp；既没有重叠，也没有间隔的基因对共计 4 处。其中 $tRNA^{Gln}$、$tRNA^{Cys}$、$tRNA^{Tyr}$、$tRNA^{Phe}$、$tRNA^{His}$、$tRNA^{Pro}$、$tRNA^{Leu}$、$tRNA^{Val}$ 和 ND1、ND4、ND4L、ND5 以及 16s rRNA、12srRNA 基因位于 N 链上，其余 23 个基因位于 J 链上，具体信息见表 3。

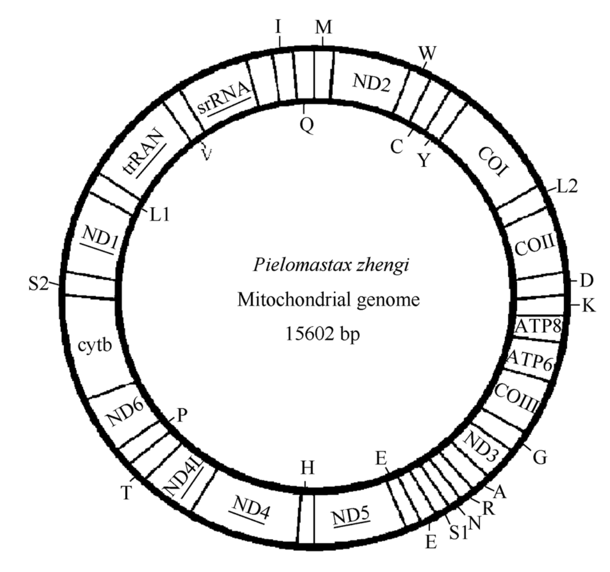


图 1　郑氏比蜢线粒体基因组结构

Fig. 1　The map of the *Pielomastax zhengi* mitogenome

图中 N 链编码的 4 个蛋白质基因和 2 个 rRNA 基因用下划线标出；8 个 tRNA 基因在圈内以单字母缩写标出。

The N strand coding 4 PCGs and 2 rRNAs are underlined, 8 tRNAs are indicated by abbreviations within the circle in the map.

2.2　线粒体基因组的碱基组成及密码子使用

郑氏比蜢线粒体基因组的碱基组成具有很强的 AT 偏向性，在 4 种碱基中，A 含量最多，G 含量最少。J 链的碱基含量为：A(39.4%) > T(32.4%) > C(15.6) > G(12.6%)，AT(71.8%)远大于 CG(28.2%)，这种现象普遍存在于蛋白质基因、tRNA 和 rRNA 基因，尤其在 A+T 富集区。郑氏比蜢的 13 个蛋白质基因最常用的起始密码子是 ATG，其次是 ATC 和 ATT。除 COIII、ND3、CytB 和 ND1 以 TAG 作为终止密码子，ND5 的终止密码子为不完全的 T 外，

表 3 郑氏比蜢线粒体基因组组成

Tab. 3 Gene organization of the *Pielomastax zhengi* mitochondrial genome

基因 Genes	编码链 Coding strand	起始位置 Start position	终止位置 End position	碱基长度 Length	间隔 Intergenic length	反密码子 Anticodon	起始密码子 Initiation condon	终止密码子 Termination condons
tRNA^{Ile}	J	1	70	71		GAT		
tRNA^{Gln}	N	68	137	70	-3	TTG		
tRNA^{Met}	J	137	205	69	-1	CAT		
ND2	J	206	1225	1020	0		ATC	TAA
tRNA^{Trp}	J	1224	1288	65	-2	TCA		
tRNA^{Cys}	N	1281	1342	62	-8	GCA		
tRNA^{Tyr}	N	1345	1407	63	2	GTA		
CO Ⅰ	J	1400	2944	1545	-8		ATC	TAA
tRNA^{Leu}	J	2940	3005	66	-5	TAA		
CO Ⅱ	J	3009	3692	684	3		ATG	TAA
tRNA^{Asp}	J	3691	3754	63	-2	GTC		
tRNA^{Lys}	J	3757	3827	71	2	CTT		
ATP8	J	3848	4006	159	20		ATC	TAA
ATP6	J	4000	4677	678	-7		ATG	TAA
COⅢ	J	4681	5472	792	3		ATG	TAG
tRNA^{Gly}	J	5473	5538	66	0	TCC		
ND3	J	5539	5892	354	0		ATT	TAG
tRNA^{Ala}	J	5891	5953	63	-2	TGC		
tRNA^{Arg}	J	5953	6014	62	-1	TCG		
tRNA^{Asn}	J	6016	6081	66	2	GTT		
tRNA^{Ser}	J	6081	6147	67	-1	GCT		
tRNA^{Glu}	J	6149	6215	67	1	TTC		
tRNA^{Phe}	N	6214	6278	65	-2	GAA		
ND5	N	6276	8004	1729	-3		ATT	T
tRNA^{His}	N	8015	8079	65	10	GTG		
ND4	N	8083	9414	1332	3		ATG	TAA
ND4L	N	9408	9698	291	-7		ATG	TAA
tRNA^{Thr}	J	9700	9766	67	1	TGT		
tRNA^{Pro}	N	9767	9832	66	0	TGG		
ND6	J	9834	10361	528	1		ATC	TAA
CytB	J	10354	11490	1137	-8		ATG	TAG
tRNA^{Ser}	J	11489	11559	71	-2	TGA		
ND1	N	11581	12525	945	21		ATG	TAG
tRNA^{Leu}	N	12527	12593	67	1	TAG		
LrRNA	N	12595	13895	1301	1			
tRNA^{Val}	N	13898	13968	71	2	TAC		
SrRNA	N	13969	14763	795	0			
A+T rich		14764	15602	839	0			

其 8 个蛋白质基因的终止密码子都为完整的 TAA，具体信息见表 3。郑氏比蜢线粒体基因组两条链上编码的蛋白质密码子使用情况存在差异，即 J 链编码基因偏向于使用第 3 位点为 A 的密码子，而 N 链偏向于使用第 3 位点为 U 的密码子。

2.3 tRNA 二级结构

郑氏比蜢线粒体基因组有 22 种 tRNA，其中 14 种位于重链上，8 种位于轻链上。用 tRNAScan-SE 1.21 预测出郑氏比蜢 16 个 tRNA 的二级结构，其余 6 个 tRNA 二级结构是通过与威廉剑角蝗

Acrida willemsei (NC_011303)比对确定其在整个基因组上的位置后绘出。在所预测的 22 种 tRNA 二级结构中总共出现了 37 处错配, 其中有 32 对为 GU 错配；其余 5 对错配中：2 对 UU 错配发生在 $tRNA^{Ala}$ 和 $tRNA^{Phe}$ 的氨基酸接受臂和反密码子臂；1 对 AC 错配发生在 $tRNA^{Met}$ 的氨基酸接受臂；1 对 AA 错配发生在 $tRNA^{Lys}$ 的氨基酸接受臂；1 对 UC 错配发生在 $tRNA^{Pro}$ 的氨基酸接受臂。除了 $tRNA^{Asp}$、$tRNA^{Val}$ 和 $tRNA^{SerAGN(S)}$ 的反密码环是 9 个碱基外, 其余的反密码环均为 7 个碱基(图 2)。

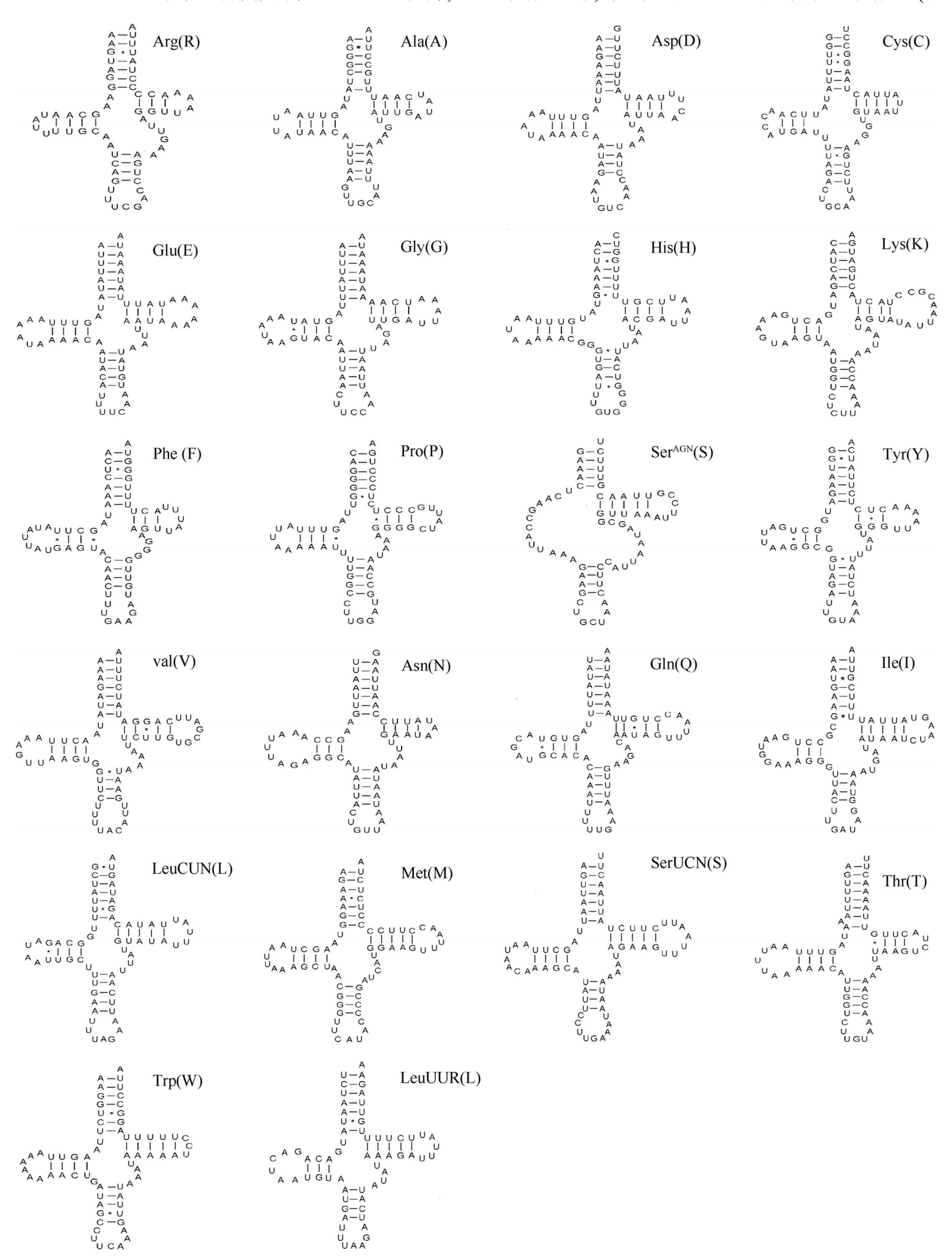


图 2　郑氏比蜢线粒体基因组 tRNA 二级结构

Fig. 2　The tRNA secondary structures of the *Pielomastax zhengi* mitogenome

2.4 rRNA 二级结构

郑氏比蜢线粒体基因组的 lrRNA 和 srRNA 分别位于 tRNA$^{Leu(L\text{-}CUN)}$和 tRNA$^{Val\ (V)}$，以及 tRNA$^{Val\ (V)}$和 D-loop 之间，其长度分别是 1301 bp 和 795 bp。两个 rRNA 基因的 A+T 含量为 75.2%，高于整个基因组的平均 A+T 含量(71.8%)，G 含量(15.1%)是 C 含量(9.8%)的近两倍。以短额负蝗和西藏飞蝗的 lrRNA 和 srRNA 二级结构为基础对郑氏比蜢的二级结构进行了预测。结果显示，郑氏比蜢 lrRNA 二级结构总共有 6 个结构域(结构域Ⅲ缺失)和 44 个茎环结构。srRNA 的二级结构包含 3 个结构域和 30 个茎环结构(图 2)。郑氏比蜢的 lrRNA 和 srRNA 二级结构与短额负蝗和西藏飞蝗基本相似，只在少数位置存在差异。

2.5 A+T 丰富区

郑氏比蜢的 A+T 丰富区位于 srRNA 与 tRNAIle(I)之间，全长 839 bp，A+T 含量为 82.1%，明显高于全基因组的平均水平(71.8%)。在郑氏比蜢的 A+T 丰富区发现一段 Poly(T)(T stretch)，且能形成一个茎环结构(图 4)。

3 讨 论

3.1 基因排列顺序

在直翅目昆虫线粒体基因组的研究中发现蝗亚目的蝗总科、蚤蝼总科和蚱总科基因排列次序相同，都发生了 KD 倒置现象，即 tRNA$^{Asp(D)}$ 排在 tRNA$^{Lys(K)}$ 基因上游(DK 排列) (Ballard & Dean, 2001)。蜢总科的变色乌蜢为 KD 排列，与蝗亚目

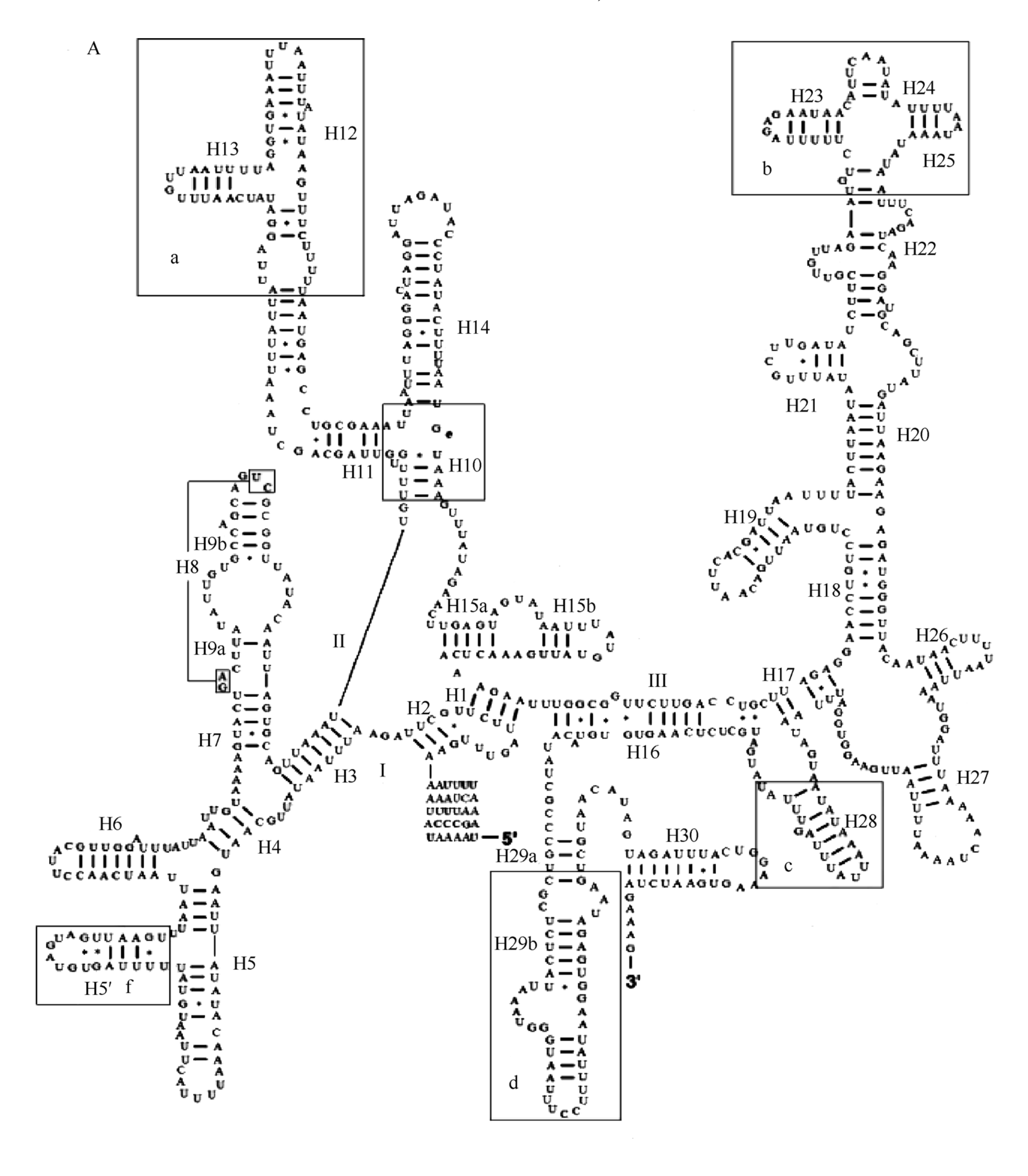


图 3　郑氏比蜢 rRNA(lrRNA 和 srRNA)二级结构预测结果

Fig. 3　The secondary structures of mitochondrial rRNAs (lrRNA and srRNA)of *Pielomastax zhengi*

A：lrRNA; B：srRNA.

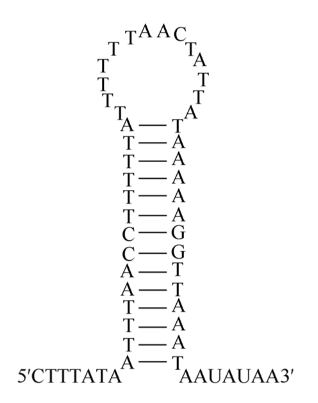


图 4　A+T 富集区 Poly(T)及附近序列所形成的茎环结构

Fig. 4　Stem-loop structure at the poly- T stretch in the A+T rich region of *Pielomastax zhengi* mitogenome

其他总科不同, 而与多数螽亚目昆虫的排序方式相同(Huang et al, 2010)。然而, 本研究所测得郑氏比蜢的基因排列顺序仍然与蝗总科的排列顺序相同, 即也发生了 KD 倒置现象, 形成这种排列方式的原因是由于 DK 这二个基因所对应的 DNA 片段发生了倒置。目前关于 DNA 片段倒置产生的原理, 最有说服力的是 Mark 和 Nick 的观点, 即双链断裂和重新结合模型(Zhong et al, 2005; Ye et al, 2008)。关于蜢总科昆虫的线粒体基因组排列顺序有三种可能：(1)大部分蜢总科线粒体基因组排列顺序与蝗亚目的相同; (2)大部分蜢总科线粒体基因组排列顺序与螽亚目的相同; (3)蜢总科昆虫的线粒体基因组排列顺序是随机的。蜢总科昆虫线粒体基因组排列究竟属于那种可能, 还有待研究更多蜢总科物种的线粒体基因组进一步证实, 但偏向第一种情况的可能性更大, 因为蜢总科昆虫无论从形态上分类还是从分子系统上划分都表明与蝗亚目昆虫的亲缘关系更近。

3.2　tRNA 二级结构

大部分直翅目昆虫线粒体基因组通过 tRNAScan-SE 1.21 可以预测出 20 个 tRNA 基因。本研究的郑氏比蜢只能预测出 16 个 tRNA 基因, 除了在大部分直翅目昆虫都不能预测出来的 $tRNA^{ser}$ (UCN)以外,

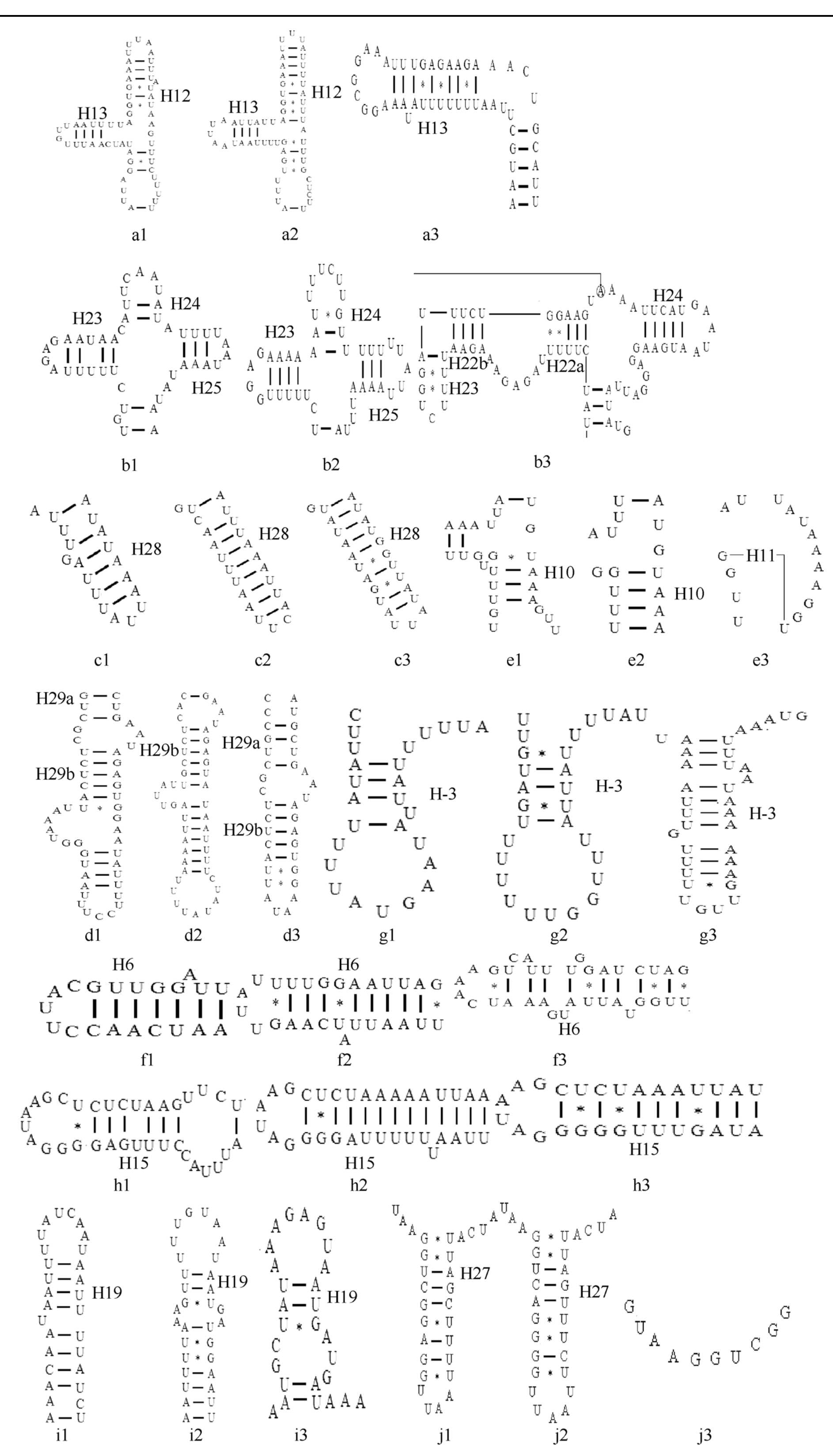


图 5 郑氏比蜢、西藏飞蝗和疑钩额螽 rRNA 二级结构的比较

Fig. 5 The comparison of rRNA secondary structures among *Pielomastax zhengi, Locusta migratoria tibetensis* and *Ruspolia dubia*

a−f: srRNA; g−j: lrRNA; 1: *Pielomastax zhengi*; 2: *Locusta migratoria tibetensis*; 3: *Ruspolia dubia*.

还有 5 个 tRNA 基因没有预测出来。通过比较分析发现，除了 tRNA^{ser} (UCN)不具有典型的三叶草二级结构外，郑氏比蜢其余的 5 个 tRNA 二级结构虽然具有典型的二级结构，但是也存在一些差异，即

典型的三叶草结构的 TΨC 臂有 5 对配对碱基，而这 5 个 tRNA 二级结构的 TΨC 臂只有 3~4 对配对碱基；另外，$tRNA^{Lys}$ 和 $tRNA^{Arg}$ 的反密码臂只有 4 对配对碱基。这些结构特征可能是导致 5 个 tRNA 基因没能预测出来的原因。另外，预测的 22 种 tRNA 二级结构中总共出现了 37 处错配，其中 32 对为 GU 错配。有人认为线粒体基因组 tRNA 基因的部分错配可以通过 RNA 编辑校正，不会引起氨基酸转运上的障碍(Yokobori & Pääbo, 1995; Dang et al, 2008)。

3.3　rRNA 二级结构

rRNA 二级结构模型对于理解核苷酸的替换模式和评估 rRNA 系统发育信息的可靠性非常重要(Shi et al, 2008)。预测的郑氏比蜢 lrRNA 二级结构总共有 6 个结构域(结构域Ⅲ缺失)和 44 个茎环结构(图 2 B)；srRNA 的二级结构包含 3 个结构域和 30 个茎环结构(图 2 A)。lrRNA 二级结构的结构域 IV 和 V 比较保守，srRNA 二级结构的结构域 I 和 II 变异比较大。本文将郑氏比蜢的 rRNA 二级结构与蝗亚目西藏飞蝗的 rRNA 二级结构和螽亚目疑钩额螽的 rRNA 二级结构(Zhou et al, 2007; Jiang, 2010)进行了比较，结果发现它们 lrRNA 的二级结构有四处存在明显差异(图 3)，srRNA 的二级结构有 6 处存在明显差异。由此可见 lrRNA 要比 srRNA 更保守一些。另外，通过它们 rRNA 二级结构的比较发现，郑氏比蜢 rRNA 二级结构与疑钩额螽 rRNA 二级结构之间的差异明显大于郑氏比蜢 rRNA 二级结构与西藏飞蝗 rRNA 二级结构之间的差异(图 5)。因而，郑氏比蜢与西藏飞蝗的亲缘关系可能更近，也就是与蝗亚目昆虫的亲缘关系更近。

3.4　A+T 富集区

目前对 A+T 富集区域的研究关注主要集中于所包含的复制相关的调控信息。现在公认的是昆虫的线粒体 N 链的复制起点(ON)位于控制区内，J 链的复制则是在轻链的复制完成 97%之后才开始，即认为 O_J(J 链的复制起点)位于距离 O_N 97% mtDNA 长度的位置上(Goddard & Wolstenholme, 1978; Saito et al, 2005)。Saito et al(2005)以果蝇为主要研究对象，同时也对 10 个目的 20 种昆虫的 A+T 富集区进行了研究。根据实验结果，前期的相关研究认为， 由于 O_N 位于控制区内，加之其上游的一段 Poly(T)结构，它可能与复制起点的识别有关(ye et al, 2008)。本研究所分析的郑氏比蜢 A+T 富集区也有那样一段 Poly(T)结构，应该也与复制起点的识别有关。

参考文献：

Ballard JWO, Dean MD. 2001. The mitochondrial genome: mutation, selection and recombination[J]. *Curr Opin Genet Dev*, **11**: 667-672.

Bonfield JK, Smith KF, Staden R. 1995. A new DNA sequence assembly program [J]. *Nucleic Acids Res*, **24**: 4992-4999.

Dang JP, Liu N, Ye W, Huang Y. 2008. Complete mitochondrial genome sequence of *Gastrimargus marmoratus* (Thunberg) (Orthoptera : Acridoidea) [J]. *Acta Entomol Sin*, **51**(7): 671-680. [党江鹏, 刘 念, 叶 伟, 黄 原. 2008. 云斑车蝗线粒体基因组全序列测定与分析. 昆虫学报, **51**(7): 671-680.]

Ding FM, Shi HW, Huang Y. 2007. Complete mitochondrial genome and secondary structures of lrRNA and srRNA of *Atractomorpha sinensis* (Orthoptera, Pyrgomorphidae) [J]. *Zool Res*, **28**(6): 580-588. [丁方美, 师红雯, 黄 原. 2007. 短额负蝗线粒体基因组及其 lrRNA 和 srRNA 二级结构分析. 动物学研究, **28**(6): 580-588]

Gao J, Cheng CH, Huang Y. 2009. Analysis of complete mitochondrial genome sequence of *Aeropus licenti* Chang [J]. *Zool Res*, **30**(6): 603-612. [高佳, 程春花, 黄原. 2009. 李氏大足蝗线粒体全基因组序列分析. 动物学研究, **30**(6):603-612].

Goddard JM, Wolstenholme DR. 1978. Origin and direction of replication in mitochondrial DNA molecules from *Drosophila melanogaster* [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, **75**(8): 3886-3890.

Huang Y, Liu N, Lu HM, 2010. Research progress in mitochondrial genomes of the Orthoptera insects [J]. *Acta Entomol Sin*, **53**(5) : 581-586. [黄原, 刘念, 卢慧甍. 直翅目昆虫线粒体基因组研究进展. 昆虫学报, **53**(5) : 581-586.]

Huang JH, Huang Y, Zhou SY. 2009. Check list of Chinese species of superfamily Eumastacoidea (Orthoptera: Caelifera) [J]. *J Guangxi Normal Univ*, **27**(1): 84-87. [黄建华, 黄 原, 周善义. 2009. 中国蜢总科昆虫名录. 广西师范大学学报, **27**(1): 84-87.]

Jiang DY. 2010. Determination and analysis of four complete mitochondrial genome sequences of locust populations [D]. College of Life Sciences, Xi'an Shaanxi Normal University. [江东洋. 2010. 中国四种飞蝗线粒体基因组序列的测定与分析 [D]. 西安: 陕西师范大学生命科学学院.]

Liu N, Hu J, Huang Y. 2006. Amplification of grasshoppers complete mitochondrial genomes using long PCR [J]. *Chn J Zool*, **41**: 61-65.[刘念, 胡 靖, 黄 原. 2006. 应用长 PCR 扩增蝗虫线粒体全基因组. 动物学杂志, **41**: 61-65.]

Saito S, Tamura K, Aotsuka T. 2005. Replication origin of mitochondrial DNA in insects[J]. *Genetics*, **171**(4): 1695-1705.

Shi HW, Ding FM, Huang Y. 2008. Complete sequencing and analysis of mtDNA in *Phlaeoba albonema* Zheng [J]. *Chn J Biochem Mol Biol*, **24** (7): 604-611.

Simon C, Buckley TR, Frati F, Stewart JB, Beckenbach AT. 2006. Incorporating molecular evolution into phylogenetic analysis, and a new compilation of conserved polymerase chain reaction primers for animal mitochondrial DNA [J]. *Annu Rev Ecol Evol Syst*, **37**:545–579.

Wolstenholme DR, 1992. Animal mitochondrial DNA: structure and evolution [J]. *Int Rev Cytol*, **141**: 173-216.

Yokobori S, Pääbo S. 1995. Transfer RNA editing in land snail mitochondria [J]. *Proc Natl Acad. Sci USA*, **92**: 10432-10435.

Ye W, Dang JP, Xie LD, Huang Y. 2008. Complete mitochondrial genome of *Teleogryllus emma* (Orthoptera: Gryllidae) with a new gene order in Orthoptera [J]. *Zool Res*, **29**(3): 236-244. [叶 伟, 党江鹏, 谢令德, 黄 原. 2008. 黄脸油葫芦线粒体基因组：一种新的基因排列方式. 动 物 学 研 究, **29**(3):236-244.]

Zhong J, Li G, Liu ZQ, Li QW, Wang YQ. 2005. Gene rearrangement of mitochondrial genome in the vertebrate [J]. *Acta Genet Sin*, **32**(3): 322-330. [钟 婧, 李 光, 刘忠权, 李庆伟, 王义权. 2005. 脊椎动物线粒体DNA 的基因重排. 遗传学报, **32** (3): 322-330.]

Zhou ZJ, Huang Y, Shi FM. 2007. The mitochondrial genome of *Ruspolia dubia* (Orthoptera: Conocephalidae) contains a short A+T-rich region of 70 bp in length [J]. *Genome*, **50**: 855-866.

中国灵长类专家组 2011 年年会在四川召开

中国灵长类专家组 2011 年年会于 7 月 16—18 日在四川省南充市西华师范大学和广元市青川县唐家河国家级自然保护区举行。会议由中国灵长类专家组主办，西华师范大学与唐家河自然保护区联合承办。与会者来自世界自然保护联盟（International Union for Conservation of Nature and Natural Resources，IUCN）、世界自然基金会（World Wide Fund for Nature，WWF）、大自然保护协会（The Nature Conservancy，TNC）、保护国际（Conservation International，CI）、野生动植物保护国际（Fauna & Flora International，FFI）、中国科学院、西华师范大学、数个国内灵长类动物保护区管理局等国内外 37 个单位，共有 120 余人参加。其规模远超历届，表明我国在灵长类研究和保护工作上又迈出了一大步，值得庆幸。

7 月 16 日上午，世界灵长类专家组组长、CI 总裁 Russell Mittermier 博士在西华师大作了题为“21 世纪全球灵长类保护战略”的报告（中国灵长类专家组组长龙勇诚翻译讲解）。Mittermier 博士指出：中国的当务之急还是应当尽快搞清国内灵长类物种的种类数量和分布状况，希望政府能够在灵长类保护事业上给予更大的关注。随后，中科院动物研究所李明研究员就“中国金丝猴进化历史与保护遗传学”、西华师大胡刚教授就“我国黑叶猴资源与保护现状”分别作了大会报告。

7 月 17 日上午的大会会场转至享誉中外的“动物天堂”——唐家河国家级自然保护区。西北大学齐晓光博士就“川金丝猴重层社会体系的组织模式与稳定机制”、大理学院东喜马拉雅资源与环境研究所范鹏飞博士就“中国长臂猿的分类、数量与保护”分别作了专题报告。这些报告内容昭示了目前国内灵长类动物资源保护与研究的前沿。

7 月 17 日下午，首先，由唐家河保护区保护处谌利民副处长向与会代表就以大熊猫、川金丝猴、羚牛等为重点研究对象，加强与各研究机构及保护组织的合作，构建平台，利用科研推动自然保护等方面做了工作汇报，并提出了发展生态旅游（eco-tourism）的初步思路。与会代表充分肯定了保护区工作取得的巨大成绩。其次，围绕 “如何利用灵长类物种资源以及保护和发展灵长类自然保护区” 这一主题，与会专家学者和各保护区管理局负责人就我国灵长类保护事业的发展趋势和生态旅游等问题进行了深入的探讨和交流。

7 月 18 日，与会人员在唐家河国家级自然保护区初具规模的旅游开发区进行了实地考察。期间，中央电视台十套《科技之光》栏目组、央视新科动漫频道、腾讯 QQ 等媒体对本次会议进行了全程跟踪报道。

聂 龙

（中国科学院昆明动物研究所 信息网络中心，昆明 650223）